

**Thymidin-³H-Autoradiographie
an zytologischen Prostata-Punktaten
des Menschen**

Irene Jostarndt

1975

Aus der Urologischen Klinik
der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. E. S C H M I E D T

und

dem Pathologischen Institut
der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. M. E D E R

Thymidin - ^3H - Autoradiographie an zytologischen
Prostata-Punktaten des Menschen

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

J O S T A R N D T I R E N E

aus

München

im Jahre

1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Medizin der Universität München.

Berichterstatter:	Priv.Dozent Dr. Faul
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Schmiedt
Dekan:	Prof. Dr. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	7.10.1975



Die autoradiographischen Untersuchungen wurden im Pathologischen Institut der Universität München im zytologischen Labor unter der Leitung von Professor Dr. med. H. Rabes durchgeführt.

Die klinischen Untersuchungen wurden in der Urologischen Klinik der Universität München von Priv. Doz. Dr. med. P. Faul durchgeführt.

Die Untersuchungen wurden aus Mitteln des Bundesministeriums für Jugend, Familie und Gesundheit gefördert.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551905_0090

Meinen Eltern

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
A Einleitung und Problemstellung.....	1 - 5
B Material und Methodik	6 - 14
1. Krankengut	6
2. Technik der transrektalen Fein- nadel-Aspiration	7 - 8
3. Beurteilung zytologischer Aus- strichpräparate der Prostata	8 - 10
4. Technik der Gewebsinkubation und der Autoradiographie	11 - 12
5. Beurteilung der autoradio- graphischen Präparate	12 - 14
C Ergebnisse	15 - 29
D Diskussion	30 - 36
E Klinische Schlußfolgerungen	37
F Zusammenfassung	38 - 39
G Literaturverzeichnis	40 - 45

A EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Das Prostata-Carcinom steht in der Statistik der Krebserkrankungen des Mannes nach dem Bronchial- und Magen-Carcinom mit einer Mortalität von 7,9 % an dritter Stelle maligner Tumoren in Deutschland. (Sigel et al.1972)

Mit steigender Lebenserwartung und durch die seit 1971 eingeführten Vorsorgeuntersuchungen rechnet man damit, daß die Zahl klinisch nachgewiesener Prostata-Carcinome weiter ansteigt.

Diese alarmierende Zahl macht es verständlich, daß man im Rahmen der Krebsvorsorge beim Mann nach zuverlässigen und einfachen Untersuchungsmethoden zur Erfassung des Prostata-Carcinoms sucht.

Dafür bietet sich heute neben der histologischen Untersuchung auch die zytologische Untersuchung der Prostata zum Nachweis eines Carcinoms an (Esposti 1967, 1968, 1971, Anderson et al.,1967, Bachmann,1966, Faul et al.,1971, 1973, Franzén,1960).

Mit der Möglichkeit, ein Prostata-Carcinom im zytologischen Ausstrichpräparat in verschiedene Differenzierungsgrade einzuteilen, taucht die Frage auf, ob der zytologische

Differenzierungsgrad auch eine Aussage über die biologische Aktivität des Carcinoms zuläßt und wie diese zu objektivieren ist.

Dabei benutzte man feinnadelbioptisch gewonnenes zytologisches Material zur Inkubation in Thymidin-³H-haltigem Nährmedium, wie dies mit tierischem Excisionsgewebe bereits schon früher geschehen ist. (Rajewski, 1966, Wrba et al. 1966, Helpap und Maurer 1967, Klein et al. 1970 und 1971, Lennartz et al. 1971). Derartige Inkubationsversuche mit Gewebeproben haben das Ziel, in diagnostischer Hinsicht etwas über die Proliferationsaktivität des Gewebes bzw. die Wachstumsrate von Tumoren auszusagen.

Kürzlich gelang es, an zytologischem Prostata-Biopsiematerial die Proliferationsaktivität in Abhängigkeit vom morphologischen Zellbild zu untersuchen. (Faul und Rabes 1972, Rabes und Faul, 1973). Anlaß dieser autoradiographischen Untersuchungen stellten die von Faul und Praetorius (1973) erhobenen zytologischen Befunde dar. Dabei zeigte sich, daß der zytologische Differenzierungsgrad des Carcinoms den klinischen Verlauf weitgehend bestimmt. Außerdem fand man, daß es unter der üblichen Östrogen-Therapie beim Prostata-Carcinom zu typischen morphologischen Ver-

änderungen kommt, deren Ausmaß Aufschluß über den vorliegenden therapeutischen Hormoneffekt und über den weiteren klinischen Verlauf zu geben vermag. (Faul et al., 1971, Faul und Praetorius 1973)

Im Wesentlichen haben drei wichtige Entdeckungen das quantitative Studium der Zellproliferation eingeleitet:

1. Die Autoradiographie der Einzelzelle. (Lacassagne, 1924)
2. Die Skizzierung des sogenannten Zellzyklus. (Howard und Pelc, 1957)
3. Verwendung des Thymidins als spezifischen Baustein der DNA und seine Markierung mit Tritium, einem radioaktiven Isotop des Wasserstoffs. Diese Entwicklung begann 1957 gleichzeitig in Belgien und in den USA. (Verly et al., 1957, Taylor, 1957)

Die Aussagefähigkeit autoradiographischer Untersuchungen zur Proliferationsaktivität an inkubiertem menschlichen oder tierischem Tumorgewebe hängt im wesentlichen davon ab, ob sich Tumorzellen in vitro innerhalb eines bestimmten Zeitraumes ebenso verhalten wie in vivo. In diesem Zusammenhang konnten einige Autoren (Rajewski, 1966, Fettig und Sievers, 1966) eine gute Übereinstimmung des Markie-

rungsindex bei getrennten in vivo und in vitro Inkubationsversuchen nachweisen. Helpap und Maurer (1967, 1969) zeigten durch eine in vivo- in vitro Untersuchung mittels Doppelmarkierung an einem Versuchstier, daß normales Gewebe und Ehrlich-Ascitestumorzellen der Maus nach Inkubation in vitro im Autoradiogramm gleiche Markierungsverhältnisse aufwiesen wie in vivo. Lennartz, Klein et al. (1970) fanden an Gewebeproben der Mamma, des Colons, des Rektums und der Schilddrüse des Menschen, daß die in vitro bestimmte Proliferationsaktivität der Zellen eine gute Übereinstimmung mit den in vivo erhaltenen Daten gibt.

Bei der Deutung der Inkubations-Autoradiogramme geht man von der Voraussetzung aus, daß in vivo-DNA-synthetisierende Zellen diesen einmal begonnenen Vorgang in vitro zu Ende führen, wie aus Tierversuchen bekannt ist. (Helpap und Maurer, 1969). Durch Kurzinkubation von Feinnadelpunkten der Prostata in Nährmedien mit Zusatz von tritiiertem Thymidin, einem spezifischen Vorläufer der DNA, gelingt es im Autoradiogramm des zytologischen Ausstriches die Zellen als Thymidin-³H-markiert zu erkennen, die sich während der Inkubation in der DNA-Synthese befanden.

Im zytologisch-autoradiographischen Präparat ist mit dieser Methode die Möglichkeit gegeben, sowohl den Anteil der unterschiedlichen Zelltypen an der Gesamtpopulation als auch ihren Markierungsindex (Zahl markierter Zellen pro Gesamtzellzahl) als quantitatives Maß für die Proliferationsaktivität zu bestimmen. Da jede Zelle, die sich teilt, vorher die DNA redupliziert haben muß, stellt die DNA-Synthese ein quantitatives Maß für die Proliferationsaktivität dar. Der Markierungsindex gibt dabei die Verhältnisse in vivo wieder.

Es galt nun die Frage zu lösen, ob es möglich ist, die bereits erwähnten zytologischen Untersuchungen mittels Thymidin-³H- Autoradiographie an zytologischen Punktaten der menschlichen Prostata zu objektivieren.

Nachdem der Beweis erbracht war, daß derartige Untersuchungen an feinnadelbioptisch entnommenem Prostatagewebe möglich sind (Faul und Rabes 1972) galt es, folgende Fragen zu klären:

1. Besteht ein Unterschied im Proliferationsverhalten zwischen Prostata-Adenom und Prostata-Carcinomgewebe ?
2. Besteht ein Zusammenhang zwischen dem zytologischen Differenzierungsgrad des Prostata-Carcinoms und seiner Proliferationsaktivität ?
3. Welche Veränderungen treten im Autoradiogramm unter der Östrogenbehandlung des Prostata-Carcinoms auf ?

B MATERIAL UND METHODIK

1. Krankengut

Untersucht wurden bisher 32 Kranke, im Alter von 55-79 Jahren, von denen 82 Autoradiogramme zur Beurteilung vorlagen.

Die Patienten gliederten sich in folgende Gruppen:

1. 8 Kranke mit der zytologischen Diagnose einer normalen Prostata, einer Adenomyomatose der Prostata und einer Prostatitis.
2. 12 Kranke mit histologisch und zytologisch gesicherten Prostata-Carcinomen verschiedener Differenzierungsgrade.
3. 12 Östrogenbehandelte Prostata-Carcinomträger mit morphologisch sichtbarem Hormoneffekt.

2. Technik der transrektalen Feinnadel-Aspiration

Die Gewinnung des zytologischen Materials erfolgt mittels transrektaler Feinnadelbiopsie, wie sie von Franzén erstmals 1960 und später von Esposti (1966) und Faul et al. (1971) beschrieben wurde.

Das Instrumentarium besteht aus einer 0,6 mm dünnen Biopsienadel, einem Metallführer, einer Vakuumspritze und einem dazugehörigen Spritzenkolben. Der Metallführer wird in den Mastdarm des Patienten eingeführt. Die Saug-spritze mit luftdicht aufgesetzter Biopsienadel wird am proximalen Ende des Metallführers angebracht und bis zur gewünschten Stelle vorgeschoben. Man sticht nun möglichst schnell mit der Nadel 1/2 - 1 cm tief in die Prostata ein. Dabei wird das Material unter Zurückziehen des Spritzenstempels aus der Prostata abgesaugt.

Dabei können verschiedene verdächtige Areale der Prostata gezielt biopsiert werden. Eine Anästhesie ist nicht erforderlich. (Faul et al. 1971)

Das auf diese Weise gewonnene Material enthält auf Grund der geringen Dicke der Biopsienadel (0,6 mm) in der Regel

kein Stroma sondern fast ausschließlich Prostata-Epithelzellen, rote und weiße Blutkörperchen.

Das Gewebsmaterial wird nun je zur einen Hälfte für das zytologische Ausstrichpräparat luftgetrocknet und nach Giemsa gefärbt und die andere Hälfte für die Autoradiographie verwendet.

3. Beurteilung zytologischer Ausstrichpräparate der Prostata

Die Epithelzellen einer normalen Prostata zeigen ein ganz typisches Zellmuster: Die Zellen liegen in kleinen oder großen Haufen beieinander, zeigen ein optisch einheitliches Bild und erinnern an eine Bienenwabenstruktur. Die Prostataepithelzelle besitzt einen runden, zentral liegenden Kern, der mehrere feine Kernkörperchen erkennen läßt, die Kernplasmarelation ist konstant. (Abb. I)

Zytologische Ausstrichpräparate normaler Prostataepithelzellen und Prostata-Adenomzellen zeigen häufig Beimengung von Blut. Bei Prostatitispräparaten finden sich je nach Schweregrad des Falles die unterschiedlichsten Entzündungszellen, bei der chronischen Form überwiegt die Zahl der Lymphozyten, bei der akuten Form überwiegen die neutrophilen Granulozyten. (Faul und Praetorius, 1973)

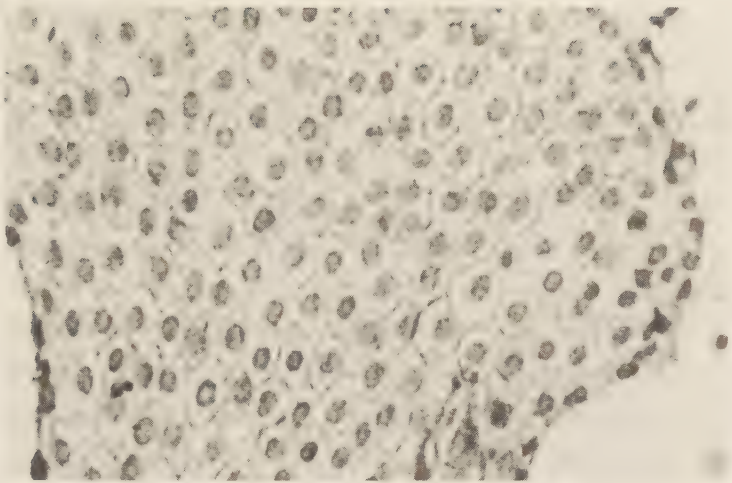


Abb.I Zytologisches Ausstrichpräparat normaler Prostata-epithelzellen.

Die zytologische Diagnose Prostata-Carcinom wird unter Berücksichtigung folgender Malignitätskriterien gestellt. (Faul et al., 1973)

1. Zell- und Kernpolymorphie
2. Hyperchromasie
3. Störung des Zellmusters durch
 - a schichtweises Übereinanderliegen der Zellen
 - b Bildung von Zellkonglomeraten
 - c Auftreten mikroachromativer Struktur (Espoti)
4. Kernnukleolen (welche ein Viertel der Kerngröße überschreiten können)
5. Verschiebung der Kernplasmarelation zugunsten des

Zellkerns.

6. Neigung der Zellen, sich aus ihrem Verband zu lösen.
(Dissoziation der Zellen aus dem Zellverband)
7. Mitosen (nur selten zu finden).

Die Entdifferenzierung eines Prostata-Carcinoms hängt vom Ausmaß der Zellanomalie ab. Das heißt, je stärker sich das Zellbild des Carcinoms vom normalen Zellbild unterscheidet, desto niederdifferenzierter ist das Carcinom. Neben dem Ausmaß der Zellanaplasie und der Größe der Kernnukleolen stellt die Auflösung der für das normale Prostatagewebe so typischen Zellgruppierung einen wichtigen diagnostischen Hinweis dar. Das Überwiegen dissoziierter Carcinomzellen spricht stets für einen niederen Differenzierungsgrad des Carcinoms.

Die unter der Östrogenbehandlung entstehende hydropische Degeneration und die regressive Degeneration der Zellen stellen ein Maß für den therapeutischen Hormoneffekt dar. (Faul et al., 1971). Im Idealfall kann das ganze zytologische Ausstrichpräparat von blasig aufgetriebenen, hydropisch degenerierten und metaplastisch transformierten Zellen übersät sein. Meist sind jedoch immer noch Carcinomzellen erkennbar.

4. Technik der Gewebsinkubation und der Autoradiographie

Unmittelbar nach der Punktion wurde das Zellmaterial in ein Nährmedium gegeben, das 20 % Serum des Patienten und 80 % TCM (Morgan et al., 1950), Streptomycin und Penicillin sowie 2 Ci Thymidin-6-³H (spezifische Aktivität 5 Ci /mM, Radiochemical Centre Amersham) pro ml enthielt.

Das Nährmedium war dabei in Portionen von 3 ml in kleinen sterilen zylindrischen Glasgefäßen (Durchmesser 2,5 cm, Höhe 4,5 cm) mit Schraubverschluß abgefüllt. Das zytologische Material wurde in die Gläschen eingespritzt, die Röhrchen wurden verschlossen und zum Transport in ein wassergefülltes Dewar-Gefäß (Innentemperatur 37,8° C) gestellt. Das Punktat wurde dann nach Carbogenbegasung (5 % CO₂ , 95 % O₂) bei 37,8° C für 60 Minuten bis 3 Stunden im Brutschrank inkubiert. Nach Zentrifugierung (3 Minuten, 1500 U / Min.) und mehrfacher Resuspension und Zentrifugierung in 0,9 % NaCl - Lösung bei 4° C wurde das Sediment auf einem Objektträger ausgestrichen, getrocknet und in Alkohol-Äther fixiert.

Die Autoradiographie wurde nach der Stripping-Film-Methode mit Kodak AR 10 durchgeführt.

Die Expositionszeit betrug 14 - 21 Tage.

Nach Entwicklung und Fixierung wurden die Präparate durch den Film hindurch schwach mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

5. Beurteilung der autoradiographischen Präparate

Es wurde je eine Punktion von drei verschiedenen Prostataarealen durchgeführt. Aus dem bei einer Punktion gewonnenem Material fertigte man je 2 Ausstrichpräparate an, so daß pro Patient 6 Autoradiogramme zur Beurteilung vorlagen. Von jedem Patienten wurden 2 - 3 Präparate mit Inkubationszeiten von 1 bis 3 Stunden ausgewertet (siehe Tabellen im Ergebnisteil).

Zellen, die sich während der Inkubationszeit in Thymidin-³H-haltigem Nährmedium in der DNA-Synthesephase befinden, nehmen den markierten Vorläufer der DNA auf und sind im Autoradiogramm durch Silberkornbelegung des Zellkerns zu erkennen. (Abb. II)

Die Abbildung zeigt im einfachen Durchlichtmikroskop schwarz erscheinende Silberkörner über allen solchen Zellen, in denen sich Tritium - Zerfälle ereignet haben.

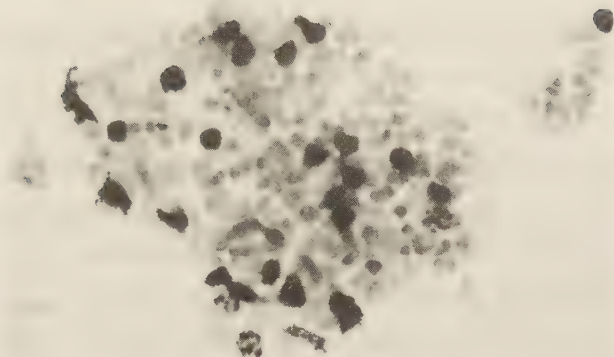


Abb. II Dichte Silberkornbelegung von zahlreichen Prostataepithelzellkernen im Thymidin- ^3H -Autoradiogramm eines niederdifferenzierten Prostata-Carcinoms. (Vergr. 400 x)

Markierte Prostataepithelzellen konnten im Zellausstrich der meisten bisher untersuchten Patienten gefunden werden, ihre Zahl differierte jedoch sehr stark. Bei der Auszählung der Autoradiogramme wurden alle erkennbaren Zellen zahlenmäßig erfaßt und in Tabellen gegenübergestellt.

Bei den Patienten der Gruppe I mit normalem Prostatagewebematerial, akuter und chronischer Prostatitis und Prostata-Adenomyomatose wurden die in Gruppen angeordneten markierten und unmarkierten Prostataepithelzellen gezählt. Hieraus errechnete sich der ^3H -Thymidin - Markierungsindex (^3H -TdR - MI). Bei den Prostatitis-Patienten wurden außerdem Lymphozyten und Granulozyten gezählt.

Bei den Patienten der Gruppe II mit der histologischen und zytologischen Diagnose Prostata-Carcinom erfolgte die Auszählung getrennt für die in Gruppen angeordneten sowie für die freidissoziiert liegenden markierten und unmarkierten Prostataepithelzellen. Auffallend war eine unterschiedlich starke Markierung der Prostataepithelzellkerne innerhalb der verschiedenen Plaques der einzelnen Autoradiogramme. Diese Heterogenität des ^3H - TdR - MI im zytologischen Punktatmaterial eines Patienten zeigt Tabelle VII.

Bei den Östrogen behandelten Carcinompatienten wurden ebenfalls die in Gruppen angeordneten markierten und unmarkierten Prostataepithelzellen und getrennt davon die dissoziiert liegenden markierten und unmarkierten Prostataepithelzellen gezählt. Außerdem zählte man die durch die kontrase sexuelle Therapie entstandenen hydropisch degenerierten, blasig aufgetriebenen Zellen. Diese Zellen zeigten bis auf wenige Ausnahmen keine Markierungen (siehe Tabelle VIII im Ergebnisteil).

C ER G E B N I S S E

Bei den Kranken der Gruppe I mit der zytologischen Diagnose normale Prostata, akute und chronische Prostatitis und Prostata-Adenomyomatose wurden folgende Befunde erhoben (Tabelle I):

PATIENT	ZYTOLOG. DIAGNOSE	INKUBATIONS- ZEIT	GESAMT- ZELLZAHL	PROSTATAEPITHEL- ZELLGRUPPEN		MJ %	LYMPHO- ZYTEN	LEUKO- ZYTEN
				unmark./markiert				
AF a	normales	2 Std.	4 356	4 351	5	0,11	-	-
72 b	Prostata- zellgewebe	3 Std.	4 490	4 485	5	0,11	-	-
GD a	normales	1 Std.	325	324	1	0,30	-	-
71 b	Prostata- zellgewebe	1 Std.	256	254	2	0,78	-	-
IK a	chronische	1 Std.	1 387	313	-	0	150	924
71 b	Prostatitis	2 Std.	469	322	-	0	30	117
GX a	chronische	140 Min.	4 997	3 700	-	0	925	372
71 b	Prostatitis	140 Min.	3 987	2 933	-	0	625	429
GZ a	chronische	3 Std.	2 241	978	-	0	30	1 233
71 b	Prostatitis	2 Std.	1 682	563	-	0	59	1 060
GY a	chronische	2 Std.	1 848	1 577	-	0	86	185
71 b	Prostatitis	3 Std.	5 000	4 322	-	0	240	438
GA a	akute	1 Std.	5 059	326	6	1,81	1 696	3 031
71 b	Prostatitis	1 Std.	5 051	327	3	0,91	1 653	3 068
GV a	Adenomyomatose	1 Std.	2 836	2 834	2	0,07	-	-
71 b		2 Std.	1 556	1 553	1	0,06	-	-

Tabelle I

Tab. I Thymidin-³H-Markierungsindex (³H-TdR-MI)
von zytologischem Prostata-Gewebe unter-
schiedlicher zytologischer Diagnose.

Nur in vier von insgesamt acht untersuchten Fällen waren markierte Prostataepithelzellen nachzuweisen. Bei dem Patienten mit einer akuten Prostatitis (GA 71) fanden wir nach 1 stündiger Inkubation einen ^3H -TdR-MI von 1,81 % und 0,91 %. Der errechnete mittlere ^3H -TdR-MI beträgt 1,36 %.

Der durchschnittliche ^3H -TdR-MI der Gruppe I, ausgenommen dem Fall der akuten Prostatitis (GA 71), beträgt 0,04 %. (Tab. II)

Thymin- ^3H -Markierungsindex von zytologischem Prostatagewebe bei normaler Prostata, Adenomyomatose und chronischer Prostatitis

Patient	Alter	Gesamtzellzahl	markierte Zellen	MJ %
AF 72	70 J.	8 846	10	0,11
GD 72	68 J.	581	3	0,52
HK 71	70 J.	1 856	0	0
CX 71	71 J.	8 984	0	0
GZ 71	68 J.	3 923	0	0
GY 71	68 J.	6 848	0	0
GV 71	65 J.	4 392	3	0,07
Summe:		35 430	16	0,04 % *****

Tab. II

Bei Patienten der Gruppe II mit zytologisch und histologisch gesicherten Carcinomen wurde durch transrektale Feinnadelbiopsie Prostata-Gewebe aus drei verschiedenen Stellen des Organs gewonnen. Der Markierungsindex wurde getrennt für die Carcinome verschiedener Differenzierungsgrade bestimmt.

(Tab. III und V)

PAT.	INKUBATIONSZEIT	GESAMT-ZELLZAHL	PROSTATAEPITHEL-ZELLGRUPPEN		MJ %	DISSOZIIERTE PROSTATA EPITHELZELLEN		MJ %	GESAMT MJ %
			unmark.	markiert		unmarkiert	markiert		
BD a	1 Std.	7124	6371	17	0,27	730	6	0,82	0,32
72 b	2 Std.	5975	5000	22	0,44	946	7	0,74	0,48
c	3 Std.	6569	6251	5	0,08	310	3	0,96	0,12
CX a	1 Std.	5002	4197	2	0,04	503	-	0	0,04
72 b	2 Std.	733	507	-	0	226	-	0	0
MC a	1 Std.	60	60	-	0	-	-	0	0
72 b	2 Std.	-	-	-	0	-	-	0	0
GS a	1 Std.	5931	5931	-	0	-	-	0	0
72 b	2 Std.	-	-	-	0	-	-	0	0
Hbl a	1 Std.	2224	1800	3	0,16	421	-	0	0,13
72 b	2 Std.	1900	1543	4	0,26	353	-	0	0,21
c	3 Std.	1548	836	5	0,59	707	-	0	0,32

Tab. III ³H-TdR-MI von zytologischem Prostata-Gewebe bei hochdifferenzierten Carcinomen.

Die 5 hochdifferenzierten Carcinome zeigen mit einem durchschnittlichen ^3H -TdR-MI von 0,2 % gegenüber den Adenomen und normalen zytologischen Befunden mit einem durchschnittlichen ^3H -TdR-MI von 0,04 % nur eine geringe Erhöhung. (Tab. IV)

Thymidin- ^3H -Markierungsindex von zytologischem Prostatagewebe bei hochdifferenzierten Karzinomen

Patient	Alter	Gesamtzellzahl	markierte Zellen	MJ %
BD 72	67 J.	19 668	60	0,30
CX 72	65 J.	5 735	2	0,04
MC 72	73 J.	60	0	0
GS 72	64 J.	5 931	0	0
HM 72	73 J.	5 672	12	0,22
Summe:		37 066	74	0,20 ====

Tab. IV

Ein unterschiedliches Verhalten weisen mittel- und niederdifferenzierte Prostata-Carcinome auf. (Tab. V) Während die Proliferationsaktivität von einem Carcinom (GC 71 $^3\text{H-TdR-MI} = 0,14 \%$) offenbar im Bereich hochdifferenzierter Carcinome liegt, ist der $^3\text{H-TdR-MI}$ bei den übrigen Tumoren mit durchschnittlich $1,96 \%$ deutlich erhöht. (Tab. VI)

PAT.	INKUBATIONSZEIT	GESAMT-ZELLZAHL	PROSTATAEPITHEL-ZELLGRUPPEN		MJ %	DISSOZIIERTE PROSTATA-EPITHELZELLEN		MJ %	GESAMT MJ %
			unmark.	markiert		unmarkiert	markiert		
BP a	1 Std.	-	-	-	0	-	-	0	0
72 b	2 Std.	3303	3199	17	0,53	85	2	2,31	0,57
c	3 Std.	581	554	2	0,36	25	-	0	0,34
CK a	1 Std.	1833	1517	21	1,36	280	15	5,08	1,96
72 b	2 Std.	1932	1490	116	2,69	601	35	5,50	3,05
c	3 Std.	5055	4640	104	2,19	297	14	4,50	2,53
HL a	1 Std.	-	-	-	0	-	-	0	0
71 b	2 Std.	-	-	-	0	-	-	0	0
c	3 Std.	4744	3704	53	0,88	1006	1	0,09	0,72
HN a	1 Std.	5232	4698	64	1,34	467	3	0,64	1,28
73 b	2 Std.	3310	2888	46	1,56	373	3	0,79	1,48
c	3 Std.	4838	4210	46	1,08	576	6	1,03	1,07
AG a	1 Std.	4852	3989	76	1,87	782	5	0,63	1,67
72 b	2 Std.	5221	3654	370	9,19	1174	23	1,92	7,52
c	3 Std.	2093	1258	94	6,95	737	4	0,54	4,68
AX a	1 Std.	4988	3753	67	1,75	1146	22	1,88	1,76
72 b	2 Std.	5315	4399	102	2,27	770	44	5,40	2,75
c	2 Std.	5938	4550	135	2,88	1240	13	1,03	2,49
GC a	1 Std.	8457	7963	11	0,14	482	1	0,21	0,14
71 b	1 Std.	4409	4135	3	0,07	269	2	0,74	0,11
c	1 Std.	1672	1520	3	0,19	148	1	0,67	0,24

Tab. V $^3\text{H-TdR-MI}$ von zytologischem Prostata-Gewebe bei mittel- und niederdifferenzierten Carcinomen.

Thymidin-³H-Markierungsindex von zytologischem Prostatagewebe
bei mittel- bis niederdifferenzierten Karzinomen

Patient	Alter	Gesamtzellzahl	markierte Zellen	MJ %
BP 72	76 J.	3 884	21	0,54
CK 72	72 J.	11 820	305	2,58
HL 71	71 J.	4 744	34	0,72
MN 73	63 J.	13 380	168	1,25
AG 72	71 J.	12 166	572	4,70
AX 72	70 J.	16 241	383	2,36
GC 74	74 J.	14 538	21	0,14
Summe:		76 773	1 504	1,96 % *****

Tab. VI

Bei einem Kranken (AG 72) mit einem histologisch und zytologisch niederdifferenziertem Prostata-Carcinom erreichte der mittlere ³H-TdR-MI einen Wert von 4,70 %.
(Siehe Tabelle VI)

Wegen der eindrucksvollen Übereinstimmung zwischen dem autoradiographischen - und klinischen Befund sei der Krankheitsverlauf bei diesem Patienten kurz dargestellt.

Bei diesem Patienten (AG 72) wurde am 15.1.1972 im Rahmen der Krebsvorsorge ein damals bereits infiltrierendes, zytologisch und histologisch niederdifferenziertes Prostatata-Carcinom diagnostiziert. Die gesamt-sauren und prostatespezifischen Phosphatasen waren leicht erhöht (15 mU / ml), während die alkalische Phosphatase im Normbereich lag.

Am 20.1.1972 wurde die übliche Therapie mit Orchidektomie und Honvan eingeleitet und am 3.2.1972 die erste zytologische Kontrolluntersuchung durchgeführt. (Das entsprechende Autoradiogramm ist in Tabelle VIII, AM 72, aufgeführt). Diese Untersuchung ergab den Verdacht auf weitere Entdifferenzierung des Carcinoms, ohne Anhalt für ein Ansprechen des Carcinoms auf die Behandlung.

Nachdem der Kranke mit einer Östrogendauerbehandlung Ende Februar nach Hause entlassen wurde, ergab eine klinische und zytologische Kontrolluntersuchung am 30.5.1972 keine wesentliche Befundänderung. (Die dazu-

gehörigen autoradiographischen Befunde sind in Tab. VIII, BL 72, dargestellt).

Im September verschlechterte sich der Zustand des Kranken und die Hausärztin leitete am 1.10.1972 eine Behandlung mit Endoxan ein. Am 24.10.1972 mußte der Kranke erneut stationär aufgenommen werden, da es innerhalb der letzten Wochen zu ischialgiformen Beschwerden gekommen war.

Rektal tastete man bei der jetzigen Aufnahme einen großen, das ganze Becken ausmauernden Tumor. Die Serumphosphatasewerte waren excessiv erhöht, multiple Metastasen im Skelettsystem und Schädel waren nachweisbar. Wegen der medikamentös kaum mehr beeinflussbaren Schmerzen ließen wir die transnasale Hypophysektomie durchführen. Danach verstarb der Kranke.

Der Verlauf dieses Kranken zeigt, daß sowohl der zytologische Differenzierungsgrad als auch der autoradiographische Befund in diesem Fall für die hohe Proliferationsaktivität des Carcinoms gesprochen haben, und daß hier eine Therapieresistenz gegenüber Östrogenen und Endoxan (Cyclophosphamid) bestanden hat.

Wesentlich scheint zu sein, daß die Tumorzellpopulation nicht einheitlich reagiert. In hochgradig differenzierten Bezirken können Areale mit hohem ^3H -TdR-MI zu finden sein. Andererseits wechseln auch bei entdifferenzierten Carcinomen Zonen hoher mit solchen geringer oder fehlender Markierung.

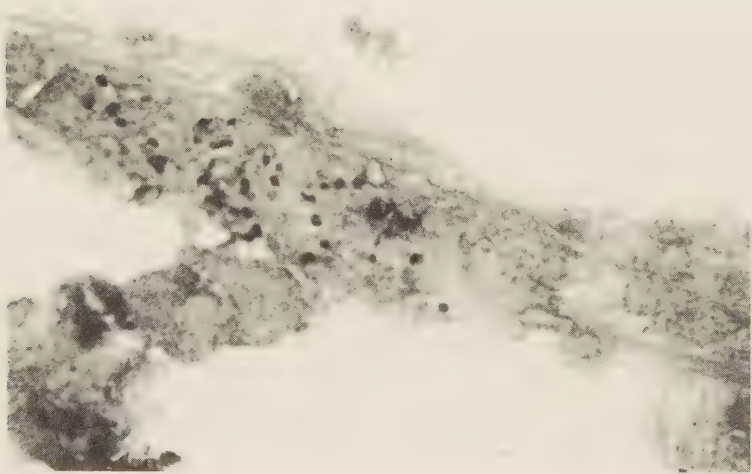


Abb. III Mitteldifferenziertes Prostata-Carcinom
Thymidin ^3H - Autoradiographie des Fein-
nadelpunktates, wechselnd starker ^3H -TdR-MI
innerhalb einer Zellgruppe. (Vergr. 250 x)

Beispiel für eine auch quantitativ fassbare Heterogenität eines Carcinoms ist ein Fall (AG 72, Tab. V) mit einem mittleren ^3H -TdR-MI über 4 %, der bei den dissoziierten Einzelzellen einen Index von 1,92 % und bei den als Gewebsverbänden gewonnenen Tumorzellen Schwankungen des ^3H -TdR-MI zwischen 0 % und 22 % zeigt. Dieser Tumor läßt sich aufgrund seines Wachstumsverhaltens eindeutig in Subpopulationen mit differenter Proliferationsaktivität untergliedern. (Tabelle VII)

Heterogenität der Thymidin-³H-Markierungs-
indices im zytologischen Punktatmaterial eines Patienten

Gesamtzellzahl des Gewebsverbandes	markierte Zellen	Markierungsindex MJ %
62	12	19
134	4	3
115	15	13
240	0	0
166	31	19
51	11	22
109	0	0
189	34	18
145	2	2
55	5	9
204	44	22
105	15	14
250	0	0
107	7	7
53	3	6
62	2	3
202	2	1
68	0	0
125	5	4
69	13	19
189	39	21
150	30	20
Dissoziierte Einzelzellen		
1197	23	1,92

Tab. VII

Es liegt nahe, die Methode der Bestimmung des ^3H -TdR-MI am Punktat des menschlichen Prostata-Carcinoms für die Beurteilung eines Therapieerfolges einzusetzen. Bei Kranken, die wegen eines gesicherten Prostata-Carcinoms anti-androgen behandelt wurden, und im zytologischen Bild einen Hormoneffekt erkennen ließen, wurde der ^3H -TdR-MI getrennt für blasig aufgetriebene, hydropisch degenerierte Zellen und unveränderte Epithelzellen bestimmt.

(Tab. VIII)

PAT.	INKUBATIONS-ZEIT	GESAMT-ZELL-ZAHN	PROSTATAEPITHEL-ZELLGRUPPEN		HJ %	DISSOZIIERTE PROSTATA-EPITHELZELLEN		HJ %	HYDROPISCH DEGENERIERTE ZELLEN		HJ %	GESAMT HJ %
			unmark.	markiert		unmarkiert	markiert		unmark.	markiert		
HA a	2 Std.	1878	1535	7	0,19	-	-	0	312	-	0	0,16
71 b	5 Std.	891	582	7	0,51	-	-	0	509	-	0	0,33
HO a	2 Std.	2618	2175	8	0,52	115	-	0	55	1	1,85	0,34
72 b	5 Std.	-	-	-	0	-	-	0	-	-	0	0
CY a	2 Std.	870	752	11	1,11	107	-	0	-	-	0	1,26
72 b	5 Std.	101	12	-	-	59	-	0	-	-	0	0
GC a	1 Std.	5755	951	1	0,17	111	6	1,75	5911	1	0,10	0,26
71 b	1 Std.	2629	120	2	0,18	755	1	0,30	1870	1	0,05	0,15
c	1 Std.	2742	1192	6	0,36	109	9	7,62	1425	1	0,07	0,58
CU a	1 Std.	1102	2619	119	4,51	288	16	5,56	1059	1	0,09	7,51
72 b	2 Std.	1020	520	7	2,11	185	12	6,15	198	-	0	1,86
c	5 Std.	3003	5927	215	3,19	515	18	8,12	269	1	0,57	7,28
CI a	1 Std.	-	-	-	0	-	-	0	-	-	0	0
72 b	2 Std.	3000	1914	33	1,69	100	15	15,04	958	-	0	1,60
c	5 Std.	1195	5615	75	2,05	505	-	0	200	-	0	1,79
GT a	1 Std.	6787	6590	12	0,18	185	-	0	-	-	0	0,18
71 b	2 Std.	-	-	-	0	-	-	0	-	-	0	0
c	2 Std.	-	-	-	0	-	-	0	-	-	0	0
AE a	1 Std.	5781	5018	19	0,65	255	1	0,59	90	-	0	0,59
72 b	2 Std.	5801	5538	71	2,05	162	2	1,25	35	-	0	1,99
c	5 Std.	1609	1121	46	1,04	72	1	1,38	69	-	0	1,02
HB a	1 Std.	-	-	-	0	-	-	0	-	-	0	0
71 b	2 Std.	687	509	-	0	21	-	0	354	-	0	0
c	3 Std.	2632	1021	3	0,29	101	-	0	1507	-	0	0,11
AN a	1 Std.	4737	4521	555	7,19	60	21	25,92	-	-	0	7,51
72 b	2 Std.	5015	4551	365	7,97	69	33	32,30	-	-	0	7,88
c	3 Std.	1085	703	57	7,50	173	2	1,14	150	-	0	5,44
BL a	1 Std.	2558	2061	195	8,47	15	5	18,75	63	-	0	8,15
72 b	2 Std.	5644	2819	267	8,56	55	5	7,89	190	-	0	7,11
c	3 Std.	-	-	-	0	-	-	0	-	-	0	0
CT a	1 Std.	5934	5207	93	2,81	279	18	6,06	537	-	0	2,82
72 b	2 Std.	2702	1526	52	2,05	552	51	9,21	158	-	0	3,71
c	3 Std.	5796	5218	83	2,76	1117	16	3,11	1051	1	0,09	2,21

Tab. VIII

^3H -TdR-MI von Prostata-Carcinomen aller Differenzierungsgrade während der Östrogenbehandlung.

Die Ergebnisse der ersten Versuche, den im zytologischen Ausstrichpräparat morphologisch erkennbaren therapeutischen Hormoneffekt autoradiographisch zu objektivieren, sind auf Tabelle IX zu erkennen. Unter langdauernder Östrogentherapie (Huggins et al., 1941, Nesbitt et al., 1944, Fergusson, 1946, Marberger et al., 1967) liegt der ^3H -TdR-MI in unserem Krankengut mit 0,94 % im Mittel niedriger als bei einer unbehandelten Kontrollgruppe gleicher Differenzierungsgrade vor Therapiebeginn (1,96 %) (Tab. IX)

Thymidin- ^3H -Markierungsindex von mittel- bis niederdifferenzierten Prostatakarzinomen unter antiandrogener Behandlung

Behandlung	Gesamtzellzahl	Markierte Zellen	MJ %
unbehandelte Vergleichsgruppe n = 7	76 773	1 504	1,96
Östrogen-Behandlung für Monate - Jahre n = 6	8 306 2 695 971 2 594 1 333 2 121	123 19 11 8 3 6	1,48 0,70 1,13 0,31 0,23 0,28
Summe:	18 020	170	0,94 % *****
14-tägige Östrogen-Behandlung und Orchiektomie n = 2	7 471 9 752	382 751	5,11 7,70
Summe:	17 223	1 133	6,58 % *****

Aus der angegebenen Streubreite läßt sich ablesen, daß das Verhalten der einzelnen Tumoren sehr unterschiedlich ist. Es ist erforderlich, den ^3H -TdR-MI mehrfach nach Therapiebeginn am Einzelpatienten zu bestimmen. In der zeitlichen Sequenz nach Therapiebeginn könnten Rückschlüsse am individuellen Patienten möglich sein.

Die im zytologischen Ausstrichpräparat als hydropisch degeneriert imponierenden Zellen zeigen nur ganz vereinzelt eine Markierung, während die in Gruppen angeordneten und freidissoziierten Carcinomzellen auch unter der Östrogenbehandlung noch häufig markiert sind. (Abb. 4, Tab. VIII)

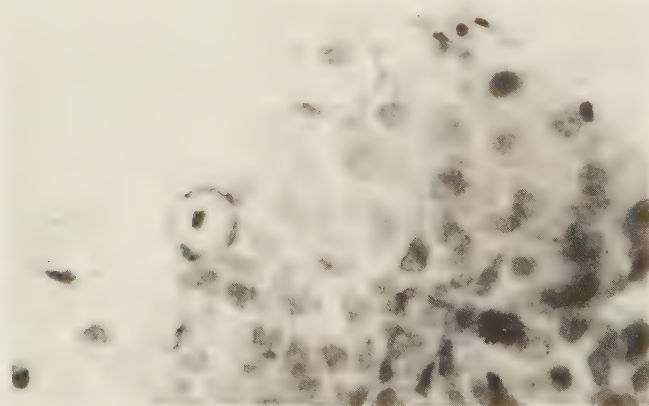


Abb. 4 Mitteldifferenziertes Prostata-Carcinom 1 Jahr₃ nach Beginn der Östrogenbehandlung: Thymidin- ^3H -Autoradiographie des Feinnadelpunktates mit einer markierten Zelle. Hydropisch degenerierte Zellen zeigen keine Markierung. (Vergr. 400 x)

Im Einzelfall kann der ^3H -TdR-MI trotz Therapie mit Östrogen im Mittel auch stark ansteigen. Dies zeigen die Ergebnisse von 2 Patienten 4 und 14 Tage nach Einsetzen der Therapie. Vereinfacht sind die Ergebnisse noch einmal in Tab. X dargestellt.

Thyminidin- ^3H -Markierungsindex von mittel- bis niederdifferenzierten Prostatakarzinomen während der Oestrogenbehandlung

<u>Ohne Therapie</u> (7 Patienten)	1,96 % (0,14 - 4,70)
<u>Oestrogen-Dauertherapie</u> (6 Patienten)	0,94 % (0,13 - 1,48)
<u>Oestrogen-Therapie für 4 - 14 Tage</u> (2 Patienten)	6,58 % (5,11 - 7,70)

Tab. X

D DISKUSSION

Die Inkubationsversuche mit ^3H - Thymidin an zytologischen Prostata-Punktaten des Menschen zeigen, daß auch an zytologischem Material nach Entnahme aus dem Organismus die in vivo begonnene DNA-Synthese in vitro für eine bestimmte Zeit fortgesetzt wird.

Nur unter der Voraussetzung, daß innerhalb der Inkubationszeit, sie betrug zwischen 1 und 3 Stunden, Zellen nicht in vermehrtem Maße neu in die DNA-Synthese eintreten, kann man annehmen, daß der in vitro bestimmte Markierungsindex ein Maß für die Proliferationsaktivität des Tumors in vivo darstellt. Diese Voraussetzung war bei unseren Ergebnissen bis auf folgende Ausnahmen erfüllt: Tab. III: HM 72, Tab. V: AX 72, AG 72, Tab. VIII: CU 72, CL 72, AE 72. Bei diesen Fällen kam es zu einem Anstieg des ^3H -TdR-MI während der 3-stündigen Inkubation, was einen Neueintritt von Zellen in die DNA-Synthese bedeuten würde.

Autoradiographische Untersuchungen mit Doppelmarkierung C^{14} - H^3 - Thymidin an Lebergewebe, Knochenmark- und Transplantationstumoren konnten in diesem Zusammenhang

bestätigen, daß der Markierungsindex in vitro bis zu einer Inkubationszeit von drei Stunden mit in vivo erhaltenen Daten vergleichbar ist, obwohl auch hier ein Neueintritt der Zellen in die DNA-Synthese nicht ausgeschlossen wurde. (Helpap und Maurer, 1967, Klein et al., 1970, Lennartz et al., 1971, Helpap et al., 1973)

Es muß betont werden, daß der Thymidin-³H- Markierungsindex sowohl von der Größe der Wachstumsfraktion (Mendelsohn, 1960) als auch von der Dauer der DNA-Synthesephase und des Zellzyklus beeinflusst wird. Anstieg des Markierungsindex kann also zweierlei bedeuten:

1. Vergrößerung der Wachstumsfraktion, oder
2. Verlängerung der Zellzykluszeit bzw. der DNA-Synthesezeit.

Vergrößerung der Wachstumsfraktion bedeutet Zunahme der Proliferationsaktivität. Andererseits bewirkt eine Verlängerung der DNA-Synthesephase eine Wachstumsverlangsamung. Ein Absinken des Markierungsindex wird entsprechend durch gegensätzliche Faktoren bestimmt. Eine exakte Aussage über die Proliferationsaktivität eines Gewebes ist nur möglich, wenn neben dem Markierungsindex auch Kenntnisse über die Wachstumsfraktion

und über die Generationszeiten vorliegen. Wie bereits erwähnt, wird das Thymidin nur in die sich in der S-Phase befindlichen Zellen eingebaut. Zahlreiche Versuche mit Dauerinfusionen von ^3H -Thymidin zeigen jedoch, daß an der Proliferation des Tumors nur ein mehr oder weniger großer Teil von Zellen ("growth fraction") beteiligt ist. (Mendelsohn, 1962, Frindel et al., 1967, Hempel, 1968) Der bei 1 - 3 stündiger Inkubationszeit ermittelte ^3H -TdR-MI muß also kleiner sein als die eigentliche Wachstumsfraktion, da er sich rechnerisch auf alle Kerne bezieht. Ein kleiner Markierungsindex kann also zweierlei bedeuten:

1. daß die Zellproliferation insgesamt gering ist, d.h. daß wenige Zellen langsam proliferieren, oder
2. daß nur ein sehr kleiner Teil der Tumorzellen schnell proliferiert.

Weiter stellt sich die Frage, ob die proliferierenden Zellen eines bestimmten Tumors alle dieselbe Generationszeit aufweisen. Feinendegen (1971) weist darauf hin, daß die Tochterzellen nicht selten Generationszeiten aufweisen, die sich von denen der Mutterzellen wesentlich unterscheiden.

Nur unter einer konstanten DNA-Synthese-Dauer könnte

ein Anstieg des ^3H -TdR-MI als quantitatives Maß für eine Erhöhung der Proliferationsaktivität des Tumors gewertet werden. Über die Dauer der DNA-Synthesephase ist bei menschlichen Zellarten aber nur sehr wenig bekannt.

Die Befunde dieser Arbeit lassen folgende Aussagen zu:

Auch an menschlichem zytologischem Prostata-Biopsiematerial ist in vitro eine quantitative Thymidin- ^3H -Autoradiographie möglich.

Es besteht ein Unterschied im Proliferationsverhalten zwischen normalem Prostatagewebe, Prostata-Adenom und Carcinomgewebe. Während normales Prostatagewebe und Prostata-Adenomyomatose eine nur geringe Proliferations-tendenz zeigten (0,04 %) ist ein Fall einer schweren akuten Prostatitis (GA 71, Tab. I) auffallend: Hier kam es zu einer starken Proliferationsaktivität der Prostata-epithelien. Der ^3H -TdR-MI erreichte einen Wert von 1,81 %. Weitere autoradiographische Untersuchungen müßten klären, ob hier ein Zufallsbefund vorliegt, oder ob bei bestimmten Formen der Prostatitis besondere Verhältnisse bezüglich der Proliferationsaktivität vorliegen. Da bei unseren Carcinom-Patienten nur in einigen Fällen eine leichte Begleitprostatitis bestand, ist nicht zu erwarten, daß dadurch die Ergebnisse verfälscht wurden.

Carcinomgewebe unterscheidet sich von Adenomgewebe durch eine erhöhte Anzahl proliferierender Zellen. Der ^3H -TdR-MI des Carcinoms erreicht wesentlich höhere Werte. Dieser Unterschied zeigt sich bei hochdifferenzierten Prostata-Carcinomen noch nicht eindeutig; Der errechnete durchschnittliche ^3H -TdR-MI von 0,2 % (Tab. IV) zeigt gegenüber den Adenomen und normalen zytologischen Befunden mit einem durchschnittlichen ^3H -TdR-MI von 0,04 % nur eine geringe Erhöhung. Bei den mittel- und niederdifferenzierten Prostata-Carcinomen findet sich dagegen ein eindeutig erhöhter mittlerer ^3H -TdR-MI von 1,96 %. (Tab. VI)

Zwischen dem zytologischen Differenzierungsgrad des Tumors und seinem Markierungsindex besteht offenbar eine inverse Proportion: Hochdifferenzierte Tumoren zeigen einen geringen ^3H -TdR-MI - niederdifferenzierte Carcinome dagegen einen wesentlich höheren ^3H -TdR-MI.

Experimentelle in vivo und in vitro Untersuchungen zeigten, daß Tumoren aus verschiedenen Zonen sehr unterschiedlicher Proliferationsaktivität bestehen können. (Lieb und Lisco, 1966, Tannock, 1968, Rabes, 1969, Steel und Tannock, 1969 und 1970, Klein et al., 1972)

Wir konnten in unseren Untersuchungen analog feststellen, daß die ^3H -Thymidin-Markierungsindizes in den verschiedenen Carcinomarealen erheblich schwankten. In niederdifferenzierten Prostata-Carcinomen wechselten z.B. Areale mit hoher Markierung mit solchen geringer oder fehlender Markierung. Diese quantitativ fassbare Heterogenität eines Carcinoms zeigte Tabelle VII.

Die Untersuchungsergebnisse zeigen weiter, daß bei langdauernder Östrogentherapie der ^3H -TdR-MI im Mittel niedriger liegt als bei einer unbehandelten Kontrollgruppe vor Therapiebeginn. (Tab. IX)

Die Modifizierung eines Teiles der Tumorzellen in hydropisch degenerierte Zellen kann mit einem Verlust der Proliferationsfähigkeit der Tumorzellen verbunden sein. Neben diesen hydropisch degenerierten Zellen zeigten sich Tumorzellgruppen unterschiedlicher Größe, die ihre ursprüngliche Morphologie behielten. Diese Tumorzellen zeigten trotz Hormontherapie markierte Zellen. Die hydropisch degenerierte Zelle selbst hat die Fähigkeit zur Proliferation offenbar vorerst verloren.

Trotzdem kann das Verhalten der einzelnen Tumoren unter kontrasexueller Therapie sehr unterschiedlich sein:

Der ^3H -TdR-MI kann auch trotz Östrogentherapie im Mittel stark ansteigen. Dies zeigen die Ergebnisse von 2 Patienten 4 und 14 Tage nach Einsetzen der Therapie (siehe Tabelle IX).

Hier liegt der Gedanke nahe, daß es in der Frühphase der Östrogenbehandlung entweder zu einer Verlängerung der DNA-Synthesephase oder zu einem Neueintritt ruhen-der Tumorzellen in die "growth - fraction" kommt.

(Rabes und Faul, 1973)

Es wäre wesentlich, den ^3H -TdR-MI am Einzelpatienten mehrfach nach Therapiebeginn zu ermitteln. Es könnten Rückschlüsse auf den therapeutischen Effekt am individuellen Patienten möglich sein.

E KLINISCHE SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die im zytologischen Ausstrichpräparat vorgenommene Malignitätsgradbestimmung läßt sich durch die autoradiographischen Befunde objektivieren.

Die autoradiographischen Befunde zeigen, daß der zytologische Differenzierungsgrad eine Aussage über die biologische Aktivität des Carcinoms zuläßt.

Autoradiographische Untersuchungen könnten geeignet sein, den Nachweis eines therapeutischen Hormoneffektes zu erbringen.

Da aber eine exakte Kenntnis der Proliferationskinetik des zu behandelnden Tumors gefordert wird, (Ganzer, 1969, Nitze, 1971, Klein et al., 1971 und 1972) ist bei der diagnostischen Verwertung von Biopsie - Autoradiogrammen nach Markierung mit ^3H -Thymidin zur Zeit noch Vorsicht geboten.

F ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Bestimmung der Proliferationsaktivität von menschlichen Prostatapunktaten in vitro durch Thymidin- ^3H - Autoradiographie. Untersucht wurden insgesamt 32 Patienten im Alter von 55 - 79 Jahren mit normaler Prostata, akuter und chronischer Prostatitis, Prostata-Adenomyomatose, Prostata-Carcinomen verschiedener Differenzierungsgrade und hormonbehandelte Prostata-Carcinome. Die Gewinnung des Punktates erfolgte durch die transrektale Feinnadelbiopsie.

In den Autoradiogrammen von normaler Prostata, Prostata-Adenomyomatose sowie chronischer Prostatitis zeigen die Prostataepithelien einen mittleren ^3H -TdR-MI von 0,04 %.

Eine wesentliche Erhöhung des ^3H -TdR-MI findet sich bei den zytologisch gesicherten Prostata-Carcinomen: Der mittlere ^3H -TdR-MI erreicht Werte von 0,2 % und 1,96 %. Höchste Markierungsindizes erreichen niederdifferenzierte Prostata-Carcinome.

Unter langdauernder Östrogentherapie liegt der ^3H -TdR-MI mit 0,94 % im Mittel niedriger als bei einer unbehandelten Kontrollgruppe gleicher Differenzierungsgrade vor Therapiebeginn (1,96 %). Die unter der Östrogentherapie auftretenden hydropisch degenerierten Zellen haben die Fähigkeit zur Proliferation verloren.

Diese Ergebnisse lassen mehrere Schlußfolgerungen zu:

1. Eine quantitative Thymidin- ^3H -Autoradiographie ist auch an zytologischen Prostata-Punktaten in vitro möglich.
2. Es besteht ein Unterschied im Proliferationsverhalten zwischen Prostata-Adenom und Prostata-Carcinomgewebe.
3. Zwischen dem zytologisch bestimmten Differenzierungsgrad eines Prostata-Carcinoms und seinem ^3H -TdR-MI bestehen Beziehungen: mit zunehmender Entdifferenzierung des Tumors steigt die Proliferationsaktivität an.
4. Unterschiedliche Markierungsindizes im Punktat eines Prostata-Carcinoms deuten auf eine ausgeprägte Heterogenität im Wachstumsverhalten der Tumorzellen.
5. Der ^3H -TdR-MI des Prostata-Carcinoms kann sich unter dem Einfluß einer kontrasexuellen Therapie ändern. Eine therapeutische Verwertbarkeit dieses Befundes deutet sich an.

G L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ANDERSON, L., JÖNNSON, G., BRUNK, U.: Puncture biopsy of the prostate in the diagnosis of prostatic cancer. Scand. J. Urol. Nephrol 1, 227 (1967)
2. BACHMANN, F.K.: Cytodiagnostische Untersuchung der Prostata mit transrektaler Aspirationspunktion. Schweiz. med. Wschr. 96, 1225 (1966)
3. ESPOSTI, P.L.: Cytologic diagnosis of prostatic tumors with the aid of transrectal aspiration biopsy. A critical review of 1110 cases and a report of morphologie and cytochemical studies. Acta cytol. (Philad.) 10, 182 (1966)
4. ESPOSTI, P.L.: Punktionscytologisk malignitetsgradering vid prostatacancer. Nord. Med. 78, 1308 (1967)
5. ESPOSTI, P.L., FRANZEN, ZAJICEK, J.: The aspiration biopsy smear. In diagnostic cytology and its histopathologic bases (ed.L.G. Koss) 2 nd, edn.pp. 565-596 (Lippincott, Philadelphia 1968)
6. ESPOSTI, P.L.: Cytologic malignancy grading of prostatic carcinoma by transrectal aspiration biopsy. Scand. J. Urol. Nephrol 5, 199 (1971)
7. FAUL, P., KLOSTERHALFEN, H., SCHMIEDT, E.: Die Erfahrungen mit der Feinnadelbiopsie der Prostata. Urologe, 3, 120 (1971)
8. FAUL, P., RABES, H.: Thymidin -³H - Autoradiographie an cytologischen Prostata-Punktaten des Menschen. Urologe A 11, 259 (1972)

9. FAUL, P., PRAETORIUS, M.: Die cytologische Diagnose des Prostata-Carcinoms und seine Malignitätsgrade. Urologe A 12, 259 (1973)
10. FEINENDEGEN, L.E.: Autoradiographische und biochemische Untersuchungen der Zellproliferation in vivo. Vorträge vom Deutschen Röntgenkongress 1970 "Präoperative Tumorbestrahlung, 12 (Urban und Schwarzenberg München, 1971)
11. FERGUSSON, J.D.: Carcinoma of prostate treated with oestrogens. Lancet 16, 551 (1946)
12. FETTIG, O., SIEVERS, R.: ^3H -Index und mittlere Generationszeit des menschlichen Portio-Carcinoms und seiner Vorstufen. (Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H -Thymidin) Beitr. path. anat. 133, 83 (1966)
13. FRANZEN, S., GIERTZ, G., ZAJICEK, J.: Cytological diagnosis of prostatic tumors by transrectal aspiration biopsy: a preliminary report. Brit. J. Urol. 32, 193 (1960)
14. FRINDEL, E., MALAISE, E.P., ALPEN, E., TUBIANA, M.: Kinetics of cell proliferation of an experimental tumor. Cancer Res. 27, 1122 (1967)
15. GANZER, U., NITZE, H.R.: Mitosebestimmung an in vivo synchronisiertem menschlichen Tumorgewebe. Arch. klin. exp. Ohr.-Nas.-Kehlkopf-Heilkunde 194, 388 (1969)

16. HELPAP, B., MAURER, W.: Bemerkungen zu autoradiographischen Untersuchungsmethoden von Excisionsgeweben in vitro mit ^3H -Thymidin. Verh. Dtsch. Ges. Path. 51, 262 (1967)
17. HELPAP, B., MAURER, W.: Autoradiographische Untersuchungen zur Frage der Vergleichbarkeit des Einbaues von markiertem Thymidin unter in vivo - Bedingungen und bei Inkubation von Gewebeproben. Virch. Arch. Abt.B Zellpath. 4, 102 (1969)
18. HELPAP, B. STIENS, R., GROULS, V.: Autoradiographische Untersuchungen zum Thymidin-Einbau nach mehrstündiger Inkubation von Rattenlebern. Histochemie 34, 305 (1973)
19. HEMPEL, K.: Analyse des Zellzyklus der Melanozyten des Harding-Passey-Melanoms der Maus unter besonderer Berücksichtigung der "Growth-Fraction". Virch. Arch. Abt.B Zellpath. 1, 15 (1968)
20. HOWARD, A., PELC, S.R.: Synthesis of DNA in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. Heredity (Supp.) 6, 261 (1957)
21. HUGGINS, G., HODGES, C.V.: Studies on prostatic Cancer. The effect of castration, of östrogen and of androgen injection on serum phosphates in metastatic carcinoma of the prostate. Cancer Res. 5, 293 (1941)

22. KLEIN, H.O., LENNARTZ, K.J., EDER, M., GROSS, R.:
In vitro Verfahren zur autoradiographischen Bestimmung der Zellkinetik der Erythroblasten bei Tier und Mensch. *Histochemie* 21, 369 (1970)
23. KLEIN, H.O., GROSS, R., LENNARTZ, K.J.: Untersuchungen zur Proliferationskinetik und Synchronisation menschlicher Tumorzellen. Ihre Bedeutung für die cytostatische Therapie. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 77, 738 (1971)
24. KLEIN, H.O., LENNARTZ, K.J., GROSS, R., EDER, M., FISCHER, R.: In vivo und in vitro Untersuchungen zur Zellkinetik und Synchronisation menschlicher Tumorzellen. *Dtsch. med. Wschr.* 97, 1273 (1972)
25. LACASSAGNE, A., LATTE, J.S.: Methode auto-histodiagraphique pour la dedection dans les organes du polonium injecte. *Compt. Rend.* 178, 488 (1924)
26. LENNARTZ, K.J., KLEIN, H.O., FEAUX DE LACROIX, W., KLEIN, P.J.: Vergleichende in vivo und in vitro Untersuchung der Zellkinetik experimenteller Tumoren und die Bestimmung des Generationszyklus von Tumorzellen des Menschen in vitro. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 55, 591 (1971)
27. LIEB, L.M., LISCO, H.: In vitro uptake of tritiated thymidine by carcinoma of the human colon. *Cancer Res.* 26, 733 (1966)

28. MARBERGER, H., MADERSBACHER, H.: Hormontherapie beim Prostata-Carcinom. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 73, 118 (1967)
29. MENDELSON, M.L.: The growth fraction: A new concept applied to tumors. Science 132, 1496 (1960)
30. MENDELSON, M.L.: Autoradiographic analysis of cell proliferation in spontaneous breast cancer of C-3-H mice. III. The Growth Fraction. J. Natl. Cancer. Inst. 28, 1015 (1962)
31. MORGAN, J.F., MORTON, H.J., PARKER, R.C.: Nutrition of animal cells in tissue culture. Initial studies on a synthetic medium. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 73, 1 (1950)
32. NESBITT, R.M., PAZZOS, R., CUMMINGS, R.H.: Treatment of prostatic carcinoma by castration and by administration of estrogenic hormone: Comparison of clinical response. J. Urol. 52, 570 (1944)
33. NITZE, H.R., GANZER, U., VOSTEEN, K.H.: Die Strahlenbehandlung synchronisierter Tumoren, erste Ergebnisse. Arch. klin. exp. Ohr.-Nas.-u.-Kehlk.-Heilk. 196, 401 (1971)
34. RABES, H.: Bestimmung der Zellzyklusphasen in heterogenen Tumorzellpopulationen in vivo. z. Naturforschung 24, 468 (1969)

35. RABES, H., FAUL, P.: Bestimmung der Proliferationsaktivität von menschlichen Prostata-Punktaten durch Thymidin-³H-Autoradiographie. Verh. Dtsch. Ges. Path. 57, (1973)
36. RAJEWSKI, M.F.: Zellproliferation in normalen und malignen Geweben: ³H-Thymidin Einbau in vitro unter Standardbedingungen. Biophysik 3, 65 (1966)
37. SIGEL, A.: Prostata-Carcinom-Vorsorgeuntersuchung. Med. Welt. 23, 1468 (1972)
38. TANNOCK, J.F.: The relation between cell proliferation and the vascular system in a transplanted mouse mammary tumor. Brit. J. Cancer Inst. 22, 258 (1968)
39. TANNOCK, J.F., STEEL, G.G.: Quantitative techniques for study of the anatomy and function of small blood vessels in tumors. J. nat. Cancer Inst. 42, 771 (1969)
40. TAYLOR, J.H., WOODS, P.S., HUGHES, W.L.: The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. Proc. Natl. Acad. Sci. 43, 122 (1957)
41. VERLY, G.W., HUNNEBELLE, G.: Preparation of ³H-Thymidine. Bull. Soc. Chim. Belges 66, 640 (1957)
42. WRBA, H., RABES, H., MERKER, K.F., DOERR, P.: Zur Bedeutung des O₂-Partialdruckes für die quantitative Bestimmung des Einbaues von radioaktiv markierten Verbindungen in Organexplantate. Exp. Cell Res. 45, 167 (1966)

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Professor Dr. med.
E. Schmiedt und Herrn Priv. Doz. Dr. med. P. Faul
für die Überlassung des Themas, Herrn Professor
Dr. med. H. Rabes für seine fachlichen Ratschläge,
und Fräulein Gantzmann für ihre stets freundliche
Hilfe im cytologischen Labor.

L E B E N S L A U F

Am 2. Januar 1948 wurde ich als Tochter des Arztes
Dr. med. Laurenz Jostarndt und seiner Ehefrau
Dr. med. Anneliese Jostarndt, geb. Schönwald in
München geboren.

Von 1955 - 1959 besuchte ich die Volksschule in München
und Neuburg/Donau und setzte meine Schulausbildung von
1959 - 1968 am Descartes-Gymnasium in Neuburg/Donau
fort. Hier legte ich im Juli 1968 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1968/69 studierte ich ein Semester
Pharmazie an der Universität Innsbruck. Im Sommer-
semester 1969 wechselte ich an die Medizinische Fakultät
derselben Hochschule. Im Wintersemester 1971/72 bestand
ich die ärztliche Vorprüfung und wechselte an die
Ludwig-Maximilians-Universität München, an der ich im
Sommersemester 1975 mein Studium mit dem Staatsexamen
beendete.

